

**RELACIONES FILOGENÉTICAS Y MORFOLÓGICAS DE POBLACIONES  
NATIVAS DE GUAJOLOTES (*Meleagris gallopavo* Linn) UTILIZANDO  
MARCADORES MOLECULARES AFLP´s**

Othmara Yalciry Ramírez Cano<sup>1</sup>; Edith Ramírez Segura<sup>1</sup>; Elvia López Pérez<sup>2</sup>

**RESUMEN**

El guajolote doméstico (*Meleagris gallopavo* Linn) es una especie que tiene gran potencial como fuente alimenticia y económica para las familias rurales debido al alto contenido nutricional de su carne ya que representa ahorro ante alguna emergencia o necesidad. Sin embargo, pocos estudios se han realizado en cuanto a su genotipo y fenotipo, por lo que el objetivo del presente estudio fue realizar una caracterización morfológica y relación genética mediante AFLP´s de 91 ejemplares provenientes de diferentes estados de la República Mexicana. Se generaron 115 fragmentos amplificados, de los cuales 52.17% presentaron polimorfismo. Mediante análisis de regresión lineal se buscó la asociación entre los marcadores moleculares y características morfológicas. Los primers E-AGG/M-ACG, E-ACC/M-AGG, E-AGG/M-AGG, E-ACA/M-ACG, EAGC/MAGC, E-ACG/M-ACG cortan en los sitios de la secuencia que codifica la expresión: largo quilla, dedo, tarso, pierna, pico, cuello, coxis, ala proximal y distal, ancho de cabeza, longitud total y perímetro torácico.

**Palabras Clave:** autóctono, genotipo, diversidad.

<sup>1</sup> Parte de la tesis profesional que presentan las dos primeras autoras como requisito parcial para obtener el título de Ingeniero Agrónomo Zootecnista. Departamento de Enseñanza, Investigación y Servicio en Zootecnia, Universidad Autónoma Chapingo. chica\_risas@hotmail.com; edith\_210609@hotmail.com.

<sup>2</sup> Profesor investigador del Departamento de Zootecnia. Universidad Autónoma Chapingo. loel50@hotmail.com

**PHYLOGENETIC RELATIONSHIPS AND MORPHOLOGICAL NATIVE  
POPULATIONS OF TURKEYS (MELEAGRIS GALLOPAVO LINN) USING  
MOLECULAR MARKERS AFLP's**

**ABSTRACT**

The domestic turkey (*Meleagris gallopavo* Linn) is a species that has great potential as a food source for economic and rural families due to the high nutritional content of the meat. Few studies have been done in terms of genotype and phenotype, so the aim of this study was to characterize morphological and genetic relatedness by AFLP's of 91 specimens from different states of these Mexico. Generated we 115 amplified fragments, of 52.17% showed polymorphism. Linear regression analysis was sought association between molecular markers and morphological characteristics. The primers E-AGG/M-ACG, E-ACC/M-AGG, E-AGG/M-AGG, E-ACA/M-ACG, E-AGC/M-AGC, E-ACG/M-ACG cut sites in the sequence encoding the expression the: long keel, toe, tarsus, leg, beak, neck, tailbone, proximal and distal wing, head width, overall length and girth.

**Keywords:** native, genotypediversity.

## INTRODUCCIÓN

La producción del guajolote doméstico (*Meleagris gallopavo* Linn.) en México es una actividad que se desarrolla en algunas comunidades suburbanas y rurales del territorio nacional. Se estima que la domesticación de esta ave se realizó en México entre los años 200 y 700 antes de Cristo. El conocimiento adquirido acerca de la crianza del guajolote, ha permitido su producción a pequeña escala obteniendo productos como huevo, carne y plumas, los cuales son utilizados por las familias para cubrir sus necesidades y los excedentes vendidos en los mercados locales. Sin embargo, debido a que cada vez hay menos superficie en las comunidades rurales y periurbanas, y a los medios de comunicación que bombardean con nuevos productos alimenticios, además de que cuando se sale del país los hábitos alimenticios cambian, el consumo de carne, huevo y guajolote nativo “criollo” ha disminuido en gran medida y tiende a desaparecer, por lo tanto es urgente realizar estudios en diversas áreas tales como nutrición, reproducción y genética molecular para mejorar su producción y hacer del guajolote nativo una especie de consumo cotidiano tomando ventajas de su rusticidad y resistencia a enfermedades, además de que con ello se podrá conservar este importante recurso.

El empleo de marcadores moleculares en producción animal permite detectar genes para algunas características valiosas e importantes económicamente para el mejoramiento animal (Guitou *et al.*, 2008). La investigación genética molecular en el guajolote nativo tiene amplias perspectivas, ya que posee un fondo genético con características adaptativas y de resistencia que lo puede convertir en una fuente valiosa de genes para las poblaciones de guajolotes asociados a sistemas

productivos altamente endogámicos que han perdido resistencia y otras características genéticas de interés pecuario (Contreras *et al.*, 2011).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

La presente investigación fue realizada durante el periodo de septiembre de 2010 a marzo de 2012 en la Granja Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, localizada a 19° 29' latitud norte, 98° 53' longitud oeste y 2240 msnm. El análisis genético se realizó en el laboratorio de Ingeniería Molecular del Departamento de Enseñanza e Investigación en Zootecnia. El estudio se realizó con 91 ejemplares, 40 machos y 51 hembras, procedentes de distintos Estados de la República Mexicana: 9 de Guanajuato, 4 de Guerrero, 7 de México, 13 de Michoacán, 14 de Hidalgo, 10 de Oaxaca, 9 de Puebla, 8 de Tlaxcala, 7 nacidos en Texcoco nombrados "Generación1" y 10 ejemplares de procedencia desconocida fueron agrupados como "Sin anillo".

Para la caracterización morfológica se siguió la metodología propuesta por la FAO (1981) para la caracterización del recurso avícola ya que no se cuenta con una específica para el caso del guajolote nativo.

Se recolectó una muestra de sangre de 100  $\mu$ L por ave, de la vena cubital externa con una jeringa de 0.5mL para insulina. La sangre recolectada fue depositada en un tubo de 2 mL, con 500 $\mu$ L de solución de colecta, se mezcló por inversión. Cada tubo fue identificado con un número progresivo, los cuales se resguardaron en hielo para su transporte al Laboratorio de Genética Molecular del Departamento de Zootecnia de la Universidad Autónoma Chapingo para su procesamiento. La purificación de ADN se llevó a cabo por un método modificado de acuerdo a Southern, 2001. La cuantificación y calidad (pureza) del ADN se determinaron en un

Nanoespectrofotómetro NanoDrop 1000, precisión de  $\pm 0.01$  ng/ $\mu$ L, a una absorbancia de 260/280 con una calidad entre 1.6 y 2.0. Una vez verificada la calidad y cantidad de ADN, se prepararon las diluciones a 20 ng/ $\mu$ L. El análisis molecular de AFLP se realizó de acuerdo al Kit de IRDye® Fluorescent AFLP® Kit for large Plant Genome Analysis de Licor, con algunas modificaciones. El producto de la amplificación selectiva se corrió en un gel de poliacrilamida desnaturalizado, para el revelado de bandas se utilizó el protocolo de CIMMYT (2006) con algunas modificaciones. Con la finalidad de describir el comportamiento de las selecciones con respecto a cada carácter se obtuvieron los datos de media, valor máximo, mínimo, desviación estándar y coeficiente de variación de las variables cuantitativas con ayuda del paquete estadístico NTSYS-pc versión 2.2. De acuerdo a las bandas generadas de las combinaciones de iniciadores, se construyó una matriz de datos codificada en presencia (1) o ausencia (0) a la cual se calculó el coeficiente de similitud con el índice de Jaccard (J) utilizado principalmente en marcadores de tipo AFLP's (Tapia *et al.*, 2005). Se utilizó el método de ligamiento promedio de UPGMA. Para realizar análisis de agrupamiento se utilizó el paquete estadístico NTSYS-pc versión 2.2 (Rohlf, 2000). De igual manera se realizó un análisis de regresión entre datos morfológicos y moleculares con el fin de estimar la relación que existe entre ellos, mediante el paquete estadístico SAS 9.2, a un  $\alpha$  de 0.001.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Para estimar la variabilidad genética de los 91 genotipos de las poblaciones analizadas se seleccionaron 11 combinaciones de iniciadores (EcoRI y MseI) de los cuales sólo siete combinaciones presentaron polimorfismo, así como el mayor grado de resolución y reproducibilidad. De las siete combinaciones que presentaron

polimorfismos se generaron 115 fragmentos amplificados (amplicones), 60 presentaron polimorfismos lo que representa el 52.17%, con los cuales se realizó la caracterización genética interpoblacional. El total de bandas de cada una de las siete combinaciones varió entre 14 para E-AGG/M-ACG y 18 para E-AAC/M-AGC, con una media de 16.42 amplicones por combinación. La combinación de AFLP's con mayor polimorfismo fue E-ACA/M-ACG con 100% de amplicones polimórficos, seguido de E-ACG/M-ACG con 82.35%, las combinaciones que presentaron menor polimorfismo fueron E-AAC/M-AGC con 11.11 y E-AGC/M-AGC con 12.5%. El número de banda varió entre 16 bandas para la combinación E-ACA/M-ACG y 2 bandas para E-AAC/M-AGC y E-AGC/M-AGC; obteniendo así un promedio de 8.57 bandas. El porcentaje de polimorfismo fue bajo, lo que muestra una baja variabilidad genética y un genotipo altamente conservado.

Resultados reportados por Trigueros *et al.* (2003), quienes realizaron un análisis molecular de tres poblaciones de guajolotes, nativos de Michoacán (Posta veterinaria y Puruarán) y una línea comercial de pavos (Big-6 Large White) por RAPD's encontraron en el análisis de bandas un rango en el peso molecular de 307 a 1309 pb para Posta Veterinaria, 318 a 1299 pb para Puruarán y 313 a 1263 pb para Big-6 Large White comercial con un porcentaje de polimorfismo de 58.33, 53.33 y 41.17% respectivamente, encontrando que dichas bandas están altamente conservadas en los genotipos evaluados. Concluyendo que la población de Puruarán puede ser el resultado de una cruce entre guajolotes nativos tales como los de la Posta y pavos comerciales, estableciendo así relaciones de parentesco.

A partir de los datos moleculares de las 10 poblaciones de guajolote nativo *Meleagris gallopavo* utilizadas en el presente trabajo de investigación se generó un dendograma de similitud genética, generado con el coeficiente de Jaccard del cual mostró una similitud de 0.96 a 1.0, lo que hace presumir que las poblaciones de estos animales presentan un mismo origen, formando un grupo homogéneo. Esto pudiera ser debido a que los guajolotes son intercambiados por mercancía o bien, son llevados como regalos a otras comunidades, lo que explica porque existe una gran similitud en los Estados de la República Mexicana de los cuales se recolectó el material genético y lo cual concuerda por lo encontrado en otros estudios realizados sobre la caracterización fenotípica y sistema de producción de *Meleagris gallopavo*. Tal es el caso de los estudios indicados por Aquino *et al.* (2003); Trigueros, *et al.* (2003); Camacho *et al.* (2008); Camacho *et al.* (2011); López *et al.* (2008); Canul *et al.* (2011a, b).

De acuerdo a la matriz de similitud y disimilitud los valores de coeficiente de similitud genética (SG) entre individuos fueron elevados de 0.96 hasta 1.0, los valores que se obtuvieron de los coeficientes de similitud variaron entre uno y cero, siendo el valor 1 el de máxima similitud y el valor 0 el de mínima, encontrando que la mayor similitud se presentó entre la población proveniente de los Estados de Hidalgo y Michoacán, dando un valor de 1.00, la menor similitud se encontró entre las poblaciones de Puebla y Guerrero arrojando una SG de 0.96. Así, el análisis basado en la técnica AFLP's permitió estimar la similitud entre los grupos de estudio, donde se evidencia la existencia de poca variabilidad genética entre poblaciones. Esto puede explicarse debido a que las poblaciones provienen de un sistema de producción de traspatio,

donde obtener mayores rendimientos no es prioridad por lo que no se lleva control sobre el tiempo generacional lo que da como resultado una tasa de mutación baja (Martin *et al.*, 1993).

Esto coincide con lo indicado por Trigueros *et al.* (2003) a mayor selección se obtienen poblaciones más homogéneas, cuyo índice de similitud se ve incrementado con una consecuente disminución del índice de polimorfismo.

Lo anterior contradice a los resultados encontrados por Chassin *et al.* (2005), en el estudio sobre diversidad y similitud genética entre poblaciones de guajolotes mexicanos utilizando un método de amplificación aleatorio de ADN polimórfico (RAPD), donde encontraron que poblaciones provenientes de diversos municipios del Estado de Michoacán presentaron altos valores de diversidad genética, lo cual puede deberse a que estas poblaciones deriven de una población ancestral o bien que deriven de una población históricamente grande y que estas poblaciones mantengan flujo genético reciente o histórico con otras poblaciones.

Las correlaciones morfológicas y los marcadores moleculares entre las características estudiadas se muestran en el Cuadro 1. La mayoría de las correlaciones morfológicas están cerca de uno, lo que indica que son altamente significativas ( $p \leq 0.001$ ) lo que demuestra que están estrechamente correlacionadas, con el modelo de regresión lineal cuadrático ya que se ajusta a lo observado. Las correlaciones genéticas positivas y altas están en un rango de 0.71 a 0.89, entre las medidas corporales, lo que indica que los animales mantienen un genotipo altamente conservado.



Cuadro 1. Correlación lineal, coeficiente de variación para datos morfológicos y su relación con los primers empleados con la técnica AFLP's para la caracterización de guajolotes nativos (*Meleagris gallopavo*Linn)

Característica morfológica	Correlación lineal (R <sup>2</sup> ) en %	Coeficiente de variación (CV)	Combinación de primers relacionados con la característica morfológica
Largo de coxis	0.7995	8.273435	E-AGG + M-ACG, E-AGG+M-AGG, E-ACA + M-ACG y E-ACG + M-ACG
Longitud total	0.7314	8.252217	E-AGG + M-ACG, E-ACC + M-AGG, E-AGG + M-AGG, EAGC + M-AGC
Perímetro torácico	0.7549	9.437708	E-AGG + M-ACG, E-ACC + M-AGG, E-ACA + M-ACG, EAGC + M-AGC y E-ACG + M-ACG
Largo de quilla	0.7429	13.32849	E-AGG + M-ACG, E-ACC + M-AGG, E-ACA + M-ACG, E-ACA + M-ACG y E-ACG + M-ACG
Largo de cuello	0.8143	7.007830	E-ACC + M-AGG, E-AGG + M-AGG, E-ACC + M-AGG, E-ACA + M-ACG, E-AGC + M-AGC y E-ACG + M-ACG
Ancho de cabeza	0.8143	7.007830	E-AGG + M-ACG, E-ACC + M-AGG, E-ACA + M-ACG y E-ACG + M-ACG
Largo de pico	0.8143	7.007830	E-AGG + M-ACG, E-ACC + M-AGG, E-ACA + M-ACG, E-ACA + M-ACG, E-AGC + M-AGC y E-ACG + M-ACG
Largo de dedo	0.8861	7.477896	E-AGG + M-ACG, E-ACC + M-AGG, E-AGG + M-AGG, E-ACA + M-ACG, E-AGC + M-AGC y E-ACG + M-ACG
Largo de tarso	0.7185	9.472259	E-AGG + M-ACG y E-AGC + M-AGC
Largo de pierna	0.7140	6.363422	E-AGG + M-ACG, E-ACA + M-ACG, E-AGC + M-AGC y E-ACG + M-ACG
Ala proximal	0.7647	9.967538	E-AGG + M-ACG, E-ACC + M-AGG, E-AGG + M-AGG y E-ACG + M-ACG
Ala distal	0.7536	7.100500	E-AGG + M-ACG, E-ACC + M-AGG, E-AGG + M-AGG, E-ACA + M-ACG y E-ACG + M-ACG

Las doce variables presentan un coeficiente de variación (CV) <15%, lo que indica que la especie puede tener poca variabilidad en estos caracteres. No obstante, el grado de variabilidad de un carácter no indica la magnitud de su utilidad ya que esto depende de los usos de la especie. Encontrando que la combinación de primers relacionados con la mayor cantidad de características morfológicas evaluadas fueron E-AGG + M-ACG, E-ACC + M-AGG, E-ACA + M-ACG, E-ACA + M-ACG, E-AGC + M-AGC y E-ACG + M-ACG. Lo anterior puede ser útil para determinar individuos que poseen genes que codifican ausencia de malformaciones en patas, ayudando al

mejoramiento de las líneas comerciales donde esta característica genera un problema. Además de obtener individuos sobresalientes en cuanto a tamaño de pechuga y pierna, con la finalidad de preservar material genético autóctono y beneficiar a las familias rurales.

Dado que los AFLP son marcadores arbitrarios y neutrales, la presencia o ausencia de una banda entre individuos no necesariamente significa que esté relacionada con un gen que codifique para la expresión de cierta característica en el animal. Como mencionan Demey *et al.* (2003), la similitud fenotípica no necesariamente es producto de la similitud genotípica, sino que diferentes “pool” de genes pueden generar fenotipos similares.

Sin embargo, Hillis y Moritz (1990) mencionan que estudios donde se integren descriptores morfológicos y marcadores moleculares ofrecen información que se puede considerar complementaria ya que no se origina un patrón único de asociación, corroborando la importancia de ambos estudios para obtener mejor descripción e interpretación de la diversidad genética de los individuos.

En *Meleagris gallopavo* Linn, no se encontró información sobre análisis moleculares realizados con la técnica de AFLP's, por lo tanto para profundizar en esta área se requiere llevar a cabo un trabajo sistemático de investigación, que parta de la estandarización de un protocolo de colección de muestras de sangre, amplificación del ADN y visualización de fragmentos y conduzcan a realizar los análisis correspondientes. Este estudio permite concluir que los AFLP's muestran polimorfismo dentro de las poblaciones. Para futuros análisis, es necesario la evaluación de las poblaciones de *Meleagris gallopavo* Linn con mas combinaciones de primers y otros tipos de marcadores moleculares, como QTL (Quantitative Trait

Loci) ya que aceleran la identificación de genes involucrados en un rasgo característico de interés o bien el empleo de microsatélites ó SSR (Simple Sequence Repeat) ya que son repeticiones de secuencias nucleotídicas cortas, no codificantes y al variar el número de repeticiones dan origen a variantes (alelos) dentro de una población y son muy informativos ya que son heredados en forma mendeliana, son capaces de seguir la segregación de loci genéticos multialélicos en diferentes cruza. De tal modo que se compare la estructura poblacional y se programen nuevos planes de mejoramiento genético y conservación del recurso autóctono que se tiene con el guajolote de traspatio.

Lo anterior puede ser útil para determinar individuos que poseen genes que codifican ausencia de malformaciones en patas, ayudando al mejoramiento de las líneas comerciales donde esta característica genera un problema. Además de obtener individuos sobresalientes en cuanto a tamaño de pechuga y pierna, con la finalidad de preservar material genético autóctono y beneficiar a las familias rurales.

### **CONCLUSIONES**

Los AFLP's mostraron poca diversidad genética en los grupos de guajolotes procedentes de diferentes Estados de la República Mexicana.

Los marcadores moleculares (primers) que se asociaron a características morfológicas fueron E-AGG + M-ACG, E-ACC + M-AGG, E-AGG+M-AGG, E-ACA+M-ACG, EAGC+MAGC, E-ACG + M-ACG.

La utilización de marcadores moleculares AFLP con las combinaciones de primers empleados en el presente estudio no permitieron diferenciar las poblaciones utilizadas en el presente trabajo de investigación por estado de procedencia.

## LITERATURA CITADA

- Aquino, R. E., L. A. Arroyo, H. G. Torres, D.D. Riestra, L. F. Gallardo, y Y. B. A. López. 2003. El guajolote criollo (*Meleagris gallopavo* L.) y la ganadería familiar en la zona centro del estado de Veracruz. *Técnica Pecuaria en México*. 41(2): 165-173.
- Camacho, E. M. A., H. E. Jiménez, L. J. Arroyo, B. E. Sánchez y L. E. Pérez. 2011. Historia natural, domesticación y distribución del guajolote (*Meleagris gallopavo*) en México, *Redalyc* 27 (3):351-360.
- Canul S. M., V. A. Sierra, S. L. Durán, B. R. Zamora, O. J. Ortiz y D. O. Mena. 2011a. Caracterización del sistema de explotación del *Meleagris gallopavo* en el centro y sur de Yucatán, México; *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal* 288-291 pp.
- Canul S. M., V. A. Sierra, D. O. Mena, O. J. Ortiz, B. R. Zamora y S. L. Durán. 2011b. Contribución a la caracterización fenotípica del *Meleagris gallopavo* en la zona sur de Yucatán, México; *Actas Iberoamericanas de Conservación Animal*. 284-287 pp.
- CIMMYT. 2006. *Laboratory Protocols: CIMMYT Applied Molecular Genetics Laboratory*. Third Edition. Mexico, D.F.: CIMMYT. 26-59 pp.
- Camacho, E. M. A., C. L. Ramírez, S. V. Hernández, L. J. Arroyo, B. E. I. Sánchez, y S. H. F. Magaña. 2008. Guajolotes de traspatio en el trópico de México: 1. Características de los productores, tamaño de la parvada y manejo zootécnico. *Universidad del Mar, Campus Puerto Escondido*, 16 p.
- Chassin, N. O., López Z. R., Cano C. H., Suárez C. E., Juárez C. A. y Zavala P. M. G. 2005. Diversidad Genética entre Poblaciones de Guajolotes Mexicanos utilizando un Método de Amplificación Aleatorio de ADN Polimórfico (RADP). *Revista Técnica Pecuaria en México*. México, 43 (3): 415-424 pp.

- Contreras, C. M. E. 2011. Análisis Genético Molecular de una Parvada de Guajolotes (*Meleagris gallopavo gallopavo*) Mediante Microsatélites [Tesis licenciatura] Morelia, Michoacán, México: Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 29-31 pp.
- Demey, J. R., A. V. Zambrano, F. Fuenmayer y V. Segovia. 2003. Relación entre caracterización molecular y morfológica en una colección de yuca. *Interciencia* 28:684-689.
- FAO. 1981. Descriptores de especies avícolas. En: Banco de datos de recursos genéticos animales. Roma, Italia.
- Guitou, H., A. M. Monti, G. Sutz, M. I. Baluk, A. M. Ellinger, A. Bustillo, A. M. Fernández, S. Matilla, G. Saez, L. J. Pérez, P. Herrmann, y A. Schijman. 2008. Terneza, Selección Asistida por Marcadores Moleculares (SAM), Angus, Bs. As., 242:33-40.
- Hillis, D. M. and C. Mortiz. 1990. Molecular systematics: context and controversies. In: Hillis, D. M., C. Mortiz (eds). *Molecular Systematics*. Sinauer. Sunderland U.S.A. pp 1-11.
- López, Z. R., C. H. Camacho, C. O. Noria, y Z. M. G. Páramo. 2008. Caracterización de sistemas de producción del guajolote (*Meleagris gallopavo gallopavo*) de traspatio en las regiones fisiográficas del estado de Michoacán, México; *Revista Técnica Pecuaria*; 46(3):303-316.
- Martin, A. P. y S. R. Palumbi. 1993. Body size, metabolic rate, generation time, and the molecular clock. *PNAS* 90(9):4087-4091.
- Rohlf, F.J. 2000. NTSYS-pc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System version 2.2 ExcenterSoftware, New York, USA

Southern, E. M. 2001. DNA microarrays history and overview. *Methods Mol Biol.* 170: 1-15.

Tapia, C. E., M. A. E. Gutierrez, M. L. Warburton, A. V. Santacruz and A. M. Villegas. 2005. Characterization of mandarin (*Citrus spp*) using morphological and AFLP markers. *INCI* 30(11):687-693.

Trigueros, C. J. G; M. J. E. López, C. H. Cano, y P. M. G. Zavala. 2003. Análisis molecular de dos poblaciones de guajolotes nativos mexicanos y una línea comercial de pavos por RAPD's. *Revista Técnica Pecuaria. México*; 43 (1):111-120.